

UNITED STATES PATENT & TRADEMARK OFFICE

Re: Application of: **Werner KNEBEL et al.**
Serial No.: To Be Assigned
Filed: Herewith
For: **SCANNING MICROSCOPE HAVING AN
ACOUSTOOPTICAL COMPONENT**

LETTER RE: PRIORITY

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

January 22, 2004

Sir:

Applicant hereby claims priority of German Application Serial No. 103 02 259.7, filed 22 January 2003.

Respectfully submitted,

DAVIDSON, DAVIDSON & KAPPEL, LLC

By 

William C. Gehris
Reg. No. 38,156

Davidson, Davidson & Kappel, LLC
485 Seventh Avenue, 14th Floor
New York, New York 10018
(212) 736-1940

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 103 02 259.7

Anmeldetag: 22. Januar 2003

Anmelder/Inhaber: Leica Microsystems Heidelberg GmbH,
Mannheim/DE

Bezeichnung: Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil

IPC: G 02 B, G 02 F

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 30. September 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Ebert

Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil

- 5 Die Erfindung betrifft ein Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil, das aus dem Ausgangslicht zumindest einer Lichtquelle Beleuchtungslicht zur Beleuchtung einer Probe abspaltet und von der Probe ausgehendes Detektionslicht zu einem Detektor weiterleitet.
- 10 In der Scanmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung
- 15 ablenkt. Die Verkipfung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.
- 20 Speziell in der konfokalen Scanmikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet. Ein konfokales Scanmikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende - fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlablenkeinrichtung zur
- 25 Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine Detektionsblende und die

Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird beispielsweise über einen Strahlteiler eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlableitvorrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um
5 anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden, hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt.

10 Anstelle des Strahlteilers kann zum Einkoppeln des Anregungslichts mindestens einer Lichtquelle in das Mikroskop und zum Ausblenden des am Objekt gestreuten und reflektierten Anregungslichts bzw. der Anregungswellenlänge aus dem über den Detektionsstrahlengang vom Objekt kommenden Lichts auch eine als akustooptisches Bauteil ausgestaltete
15 optische Anordnung vorgesehen sein, wie beispielsweise aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 199 06 757 A1 bekannt ist.

Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt, wobei die Bahn des Abtastlichtstrahles auf bzw. in dem Objekt idealer Weise einen Mäander beschreibt. (Abtasten einer Zeile in x-Richtung bei
20 konstanter y-Position, anschließend x-Abtastung anhalten und per y-Verstellung auf die nächste abzutastende Zeile schwenken und dann, bei konstanter y-Position, diese Zeile in negative x-Richtung abtasten u.s.w.). Um eine schichtweise Bilddatennahme zu ermöglichen, wird der Probentisch oder das Objektiv nach dem Abtasten einer Schicht verschoben und so die nächste
25 abzutastende Schicht in die Fokusebene des Objektivs gebracht.

Bei vielen Anwendungen werden Proben mit mehreren Markern, beispielsweise mehreren unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen präpariert. Diese Farbstoffe können sequentiell, beispielsweise mit Beleuchtungslichtstrahlen, die unterschiedliche Anregungswellenlängen
30 aufweisen, angeregt werden. Auch eine simultane Anregung mit einem Beleuchtungslichtstrahl, der Licht mehrerer Anregungswellenlängen beinhaltet, ist üblich. Aus der Europäischen Patentanmeldung EP 0 495 930:

„Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz“ ist beispielsweise ein Anordnung mit einem einzelnen, mehrere Laserlinien emittierenden Laser bekannt. Derzeit sind in der Praxis solche Laser meist als Mischgaslaser, insbesondere als ArKr-Laser, ausgebildet.

- 5 Die Lichtleistung des Beleuchtungslichtes ist auf Grund verschiedener Effekte zeitlichen Schwankungen unterworfen, was sich negativ bei der Untersuchung von Proben auswirkt.

- Eine bekannte Methode, Kurzzeitschwankungen, beispielsweise der Beleuchtungslichtleistung, auszugleichen beruht darauf, mit Hilfe eines
- 10 Strahlteilers vom Beleuchtungsstrahl einen Referenzstrahl abzuteilen und zur Bilderzeugung/-berechnung das Verhältnis der gemessenen Leistungen von Referenz- und Detektionslichtstrahl zu verwenden; dass sich so instantane Leistungsschwankungen aufheben. Dies ist offenbart in: G.J. Brakenhoff, Journal of Microscopy, Vol. 117, Pt 2, November 1979, S. 233-242. Diese
- 15 Methode hat einige Nachteile. Beispielsweise ist das Herausrechnen der Laserleistungsschwankungen im Nachhinein bei der Bildberechnung aufwändig und nicht immer eine voll befriedigende Korrekturmethode. Bei einer Verhältnisbildung aus gemessener Leistung von Referenz- und Detektionslichtstrahl kürzen sich Offsetanteile nicht heraus. Darüber hinaus
- 20 wird das errechnete Rasterbild an den Orten sehr niedriger Detektionslichtleistungen verwaschen, da das Signal zu Rausch Verhältnis es nicht mehr zulässt dem abgerasterten Bildpunkt eine Färbung oder Helligkeit korrekt und eindeutig zuzuordnen.

- Aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 100 33 269.2 A1 ist eine
- 25 Vorrichtung zum Einkoppeln von Licht in ein konfokales Rastermikroskop bekannt, die zum Ziel hat, diese Schwankungen der Beleuchtungslichtleistung zu kompensieren bzw. zu vermeiden. Die Vorrichtung zum Einkoppeln von Licht weist ein optisch aktives Bauteil, das insbesondere zur Selektion der Wellenlänge und zur Einstellung der Leistung des eingekoppelten Lichts dient,
- 30 auf. Die Vorrichtung ist dadurch gekennzeichnet, dass zur Beeinflussung des eingekoppelten Lichts das Bauteil als Stellglied einer Regelung dient. Nachteilig an dieser Vorrichtung ist, dass der Strahlteiler, der den

Beleuchtungslichtstrahlengang vom Detektionsstrahlengang trennt, zwangsläufig eine polarisations- und wellenlängenabhängige Reflexivität aufweist. Der Regelungsvorgang wird dadurch aufwändig und kompliziert und macht aufwendige Kalibrationsmessungen nötig.

- 5 In der Deutschen Offenlegungsschrift DE 197 02 753 A1 wird vorgeschlagen, permanent die Leistung der in den Scankopf eingekoppelten Laserstrahlung, insbesondere jeder einzelnen Laserlinie, zu überwachen und Schwankungen am Laser direkt oder mit einem nachgeschalteten Intensitätsmodulator (ASOM, AOTF, EOM, Shutter) zu kompensieren. Die bereits erläuterte
- 10 Strahlteiler-Problematik ist auch in Bezug auf diese Offenbarung relevant.

- Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Scanmikroskop anzugeben, bei dem die Lichtleistung des Proben-Beleuchtungslichtes effizient und zuverlässig weitgehend von der Lichtleistung, der Wellenlänge und der Polarisation des von der Lichtquelle ausgehenden Ausgangslichtes
- 15 entkoppelt ist.

Die Aufgabe wird durch ein Scanmikroskop gelöst, dass dadurch gekennzeichnet ist, dass im Strahlengang des Ausgangslichtes, aus dem das Beleuchtungslicht abgespalten ist, mindestens ein Überwachungsdetektor vorgesehen ist, der Messglied einer Regelungsschaltung ist.

- 20 Die Erfindung hat den Vorteil, dass auf effiziente Weise Beleuchtungslichtleistungsschwankungen und damit Bildartefakte weitgehend vermieden sind. Darüber hinaus erlauben die erfindungsgemäß reduzierten Anforderungen an die Eigenschaften des Ausgangslichtes der Lichtquelle hinsichtlich der Einstellung der Polarisation und der Konstanz der
- 25 Ausgangslichtleistung eine wesentlich vereinfachte Einkopplung. Insbesondere die Verwendung von Lichtleitfasern zum Transport des Ausgangslichtes, die die Lichtleistung und besonders die Polarisation ggf. erheblich und zeitabhängig verändern, ist erfindungsgemäß weitgehend ohne Einfluss auf die Konstanz der Beleuchtungslichtleistung möglich.

- 30 In einer bevorzugten Ausgestaltung spaltet das akustooptische Bauteil das Ausgangslicht räumlich spektral auf. Vorzugsweise ist in dieser

Ausgestaltungsform für unterschiedliche Wellenlängenbereiche oder unterschiedliche Wellenlängen des räumlich spektral aufgespaltenen Ausgangslichts je ein Überwachungsdetektor vorgesehen, so dass eine wellenlängenabhängige Detektion ermöglicht ist.

- 5 In einer besonderen Ausführungsform ist ein Verarbeitungsmodul vorgesehen, das in Abhängigkeit von zumindest einer mit dem Überwachungsdetektor gemessenen Lichtleistung, das akustooptische Bauteil steuert oder regelt. Das akustooptische Bauteil ist vorzugsweise als AOTF (acousto optical tunable filter) oder als AOM (akustooptischer Modulator) ausgeführt. Akustooptische
- 10 Filter sind weithin bekannt. Nur beispielsweise ist hier die Deutsche Offenlegungsschrift DE 197 13 254 zu nennen. In akustooptischen Filtern (AOTF) wird mit Hilfe eines Schallerzeugers, beispielsweise einem Piezoelement, das von einer elektromagnetischen Steuerfrequenz angesteuert wird, eine mechanische Welle erzeugt, die den AOTF durchläuft
- 15 und an dem eine Lichtwelle beugbar bzw. streubar ist. Akustooptische Filter sind idealer Weise derart aufgebaut, dass nur der Anteil der zur Steuerfrequenz korrespondierenden Wellenlänge von dem übrigen einfallenden Licht durch Beugung getrennt wird. Durch geeignete Wahl der Amplitude der Schallwelle ist die Leistung des gebeugten Lichtes einstellbar.
- 20 In einer anderen Variante ist ein Verarbeitungsmodul vorgesehen, das in Abhängigkeit von zumindest einer mit dem Überwachungsdetektor gemessenen Lichtleistung ein im Strahlengang des Ausgangslichtes der Lichtquelle zwischen der Lichtquelle und dem akustooptischen Bauteil angeordnetes steuerbares optisches Element steuert oder regelt.
- 25 Das steuerbare optische Element kann in einer Variante ein Polarisationsdreher sein, der beispielsweise ein LCD-Element oder eine drehbare Phasenplatte beinhaltet oder eine biegbare durch Doppelbrechung wirkende Lichtleitfaser beinhaltet. Diese Variante ist insbesondere dann von Vorteil, wenn zum Transport des Ausgangslichtes eine Lichtleitfaser
- 30 eingesetzt ist; da so ungewollte Drehungen der Polarisationsrichtung des Ausgangslichtes vermeidbar sind, die sich sonst, da die meisten Reflexionen im Scanmikroskop einer polarisationsabhängigen Reflexivität unterliegen, in

Schwankungen der Beleuchtungslichtleistung übersetzen würden.

In anderen Varianten ist das steuerbare optisches Element ein LCD-Element und/oder ein AOTF (acousto optical tunable filter) und/oder ein AOM (akustooptischer Modulator) und/oder ein EOM (elektrooptischer Modulator).

- 5 In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltung ist das Scanmikroskop ein konfokales Scanmikroskop.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Elemente mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

- 10 Fig. 1 Ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop und
Fig. 2 eine Detailansicht aus einem erfindungsgemäßen Scanmikroskop.

- Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop 1, das als konfokales Scanmikroskop ausgeführt ist. Eine Lichtquelle 3, die als Mehrlinienlaser 5 ausgeführt ist, emittiert zu einem Ausgangslichtstrahl 7 geformtes Ausgangslicht. Dieser passiert die Beleuchtungslochblende 9 und wird von einem Umlenkspiegel 11 zu einem akustooptischen Bauteil 13, das als AOTF 15 ausgeführt ist, gelenkt, das aus dem Ausgangslichtstrahl 7 einen Beleuchtungslichtstrahl 17 zur Beleuchtung einer Probe 19 abspaltet. Vom akustooptischen Bauteil 13 gelangt der Beleuchtungslichtstrahl 17 auf eine Strahlablenkeinrichtung 21, die einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 23 beinhaltet und den Beleuchtungslichtstrahl 17 durch die Scanoptik 25, die Tubusoptik 27 und das Objektiv 29 über bzw. durch die Probe 19 führt. Der von der Probe 19 kommende Detektionslichtstrahl 31 durchläuft in umgekehrter Richtung das Objektiv 29, die Tubusoptik 27 und die Scanoptik 25 und gelangt über den Scanspiegel 23 zum akustooptischen Bauteil 13, das den Detektionslichtstrahl 31 über ein Kompensationselement 33, das als weiteres akustooptisches Bauteil 35 ausgeführt ist, über ein Spiegelpaar aus einem ersten Spiegel 36 und einem zweiten Spiegel 37 und durch die Detektionslochblende 39 hindurch zu einem Detektor 41, der als Multibanddetektor 43 ausgeführt ist, weiterleitet. Das Spiegelpaar dient dazu,
- 15
20
25
30

den Detektionslichtstrahl 31 auf die gewünschte Strahlachse, nämlich die Strahlachse, die der Detektionslichtstrahl 31 beim Austreten aus der Strahlablenkeinrichtung 21 definiert, zu bringen. Der Ausgangslichtstrahl 7 ist gepunktet gezeichnet. Der Beleuchtungslichtstrahl 17 ist in der Zeichnung als durchgezogene Linie und der Detektionslichtstrahl 31 als gestrichelte Linie dargestellt.

Das akustooptische Bauteil 13 ist als AOTF 15 ausgestaltet, der von einer akustischen Welle durchlaufen ist. Die akustische Welle wird von einem elektrisch angesteuerten Piezo-Schallerzeuger 45 generiert. Die Ansteuerung erfolgt von einer Hochfrequenzquelle 47 aus, die eine elektromagnetische Hochfrequenzwelle, die mehrere einstellbare HF-Frequenzen aufweist, erzeugt. Die HF-Frequenzen sind so gewählt, dass nur die Anteile der gewünschten Wellenlängen aus dem Ausgangslichtstrahl 7 als Beleuchtungslicht abgespalten werden. Die übrigen, von der akustischen Anregung nicht beeinflussten Anteile des Ausgangslichtstrahls 7 treffen auf einen Überwachungsdetektor 49, der die Leistung des verbliebenen Ausgangslichtes wellenlängenabhängig misst und der Messglied einer Regelschaltung 51 ist. Die Regelschaltung 51 beinhaltet ein Verarbeitungsmodul 53, das die Messwerte des Überwachungsdetektors 49 empfängt und daraus Stellwerte errechnet, an Hand derer die Hochfrequenzquelle 47 derart durch Variation der Amplitude der akustischen Welle gesteuert wird, dass die Leistung des Beleuchtungslichtstrahles 17 zeitlich konstant auf dem gewünschten Wert ist. Durch Referenzmessung sind die Grundeinstellungen innerhalb der Regelschaltung festgelegt und in einem nicht gezeigten Speicherelement abgelegt.

Kristallschnitt und Orientierung des akustooptischen Bauteils 13 sind so gewählt, dass bei gleicher Einkoppelrichtung verschiedene Wellenlängen in

die gleiche Richtung abgelenkt werden. Das Kompensationselement 33 ist ebenfalls als AOTF ausgeführt und wird von einer weiteren Hochfrequenzquelle 55 mit einer weiteren elektromagnetischen Hochfrequenzwelle angesteuert. Die HF-Frequenz der weiteren
5 elektromagnetischen Hochfrequenzwelle ist derart gewählt, dass die Anteile des Detektionslichtstrahls 31, die die Wellenlänge des Beleuchtungslichtstrahles 17 aufweisen, ausgeblendet werden.

Das Verarbeitungsmodul 53 steuert über eine dritte Hochfrequenzquelle 59 außerdem ein zwischen der Lichtquelle 3 und dem akustooptischen Bauteil 13
10 angeordnetes steuerbares optisches Element 57, das ebenfalls als AOTF 58 ausgeführt ist, und der Grobeinstellung innerhalb der Regelschaltung 51 dient.

Ein Vorteil der Erfindung ist, dass periodisch (oder wie vom Benutzer vorgegeben) sequentiell, z.B. linienweise, alle Laserlinien ständig überwacht werden können. Benutzt wird dazu der AOTF 58, der dem AOTF 15
15 vorgeschaltet ist. Neben den Laserlinien, die gerade zur Probe 19 gelenkt werden sollen, kann mit dem AOTF 58 jeweils eine zusätzliche Laserlinie zum dem Ausgangslichtstrahl 7 zugeschaltet werden. Jede zugeschaltete Laserlinie in dem Ausgangslichtstrahl 7 kann mit einer ganz bestimmten Intensität, also z.B. 1% von der 488nm-Linie, dann 5% von der 632nm-Linie,
20 usw. je nach Ausgangsleistung des Mehrlinienlasers 5 und der Detektorempfindlichkeit des Überwachungsdetektors 49, beaufschlagt werden. Diese zusätzlichen Linien, die keiner beaufschlagten HF-Frequenz am akustooptischen Bauteil 13, das als AOTF 15 ausgeführt ist, entsprechen, werden somit nicht aus dem Ausgangslichtstrahl 7 als Beleuchtungslicht
25 abgespalten, sondern treffen auf den Überwachungsdetektor 49. Dort wird die Intensität dann in ein elektrisches Signal umgewandelt, das im Idealfall immer gleich sein sollte. Bei kurzzeitigen Änderungen einer Laserlinie oder mehrerer Laserlinien im Ausgangslichtstrahl 7 wird dann einfach die Reflektivität des akustooptischen Bauteils 13 für die Linie oder die Linien geändert, indem die
30 Amplitude der zugeordneten HF-Welle oder der HF-Wellen so geändert wird, dass die gewünschten Lichtleistungen im Beleuchtungslichtstrahl 17 stets konstant bleiben.

Da ein AOTF eine Beugungseffizienz von maximal ca. 95% hat, tritt während des Scannens immer ein geringer Anteil des Beleuchtungslichtes auf den Überwachungsdetektor 49. Dieser geringe Anteil Restlicht ruft an dem Detektor einen Offset hervor. Je nach Laserleistung unterschiedlicher
5 Laserlinien kann das störend sein. In dem Fall bietet es sich an, die jeweilige Referenzmessung zu einem nicht scannenden Zeitpunkt durchzuführen, z.B. vor jeder neuen Bildaufnahme. Dazu werden dann die Lichtleistungen der einzelnen Laserlinien im Ausgangslichtstrahl 7 durch geeignete Wahl der HF-Frequenzen am AOTF 58 so gewählt, dass eine Referenzmessung mit dem
10 Überwachungsdetektor 49 möglich ist. Von dem Verarbeitungsmodul 53 werden anschließend zur Regelung geeignete Stellwerte in die Regelschaltung 51 ausgegeben.

Es ist auch denkbar, dass sich zeitlich langsam verändernde Lichtleistungsschwankungen im Anregungslichtstrahl 7 auftreten, wie z.B.
15 während der Aufwärmphase des Systems. Im Allgemeinen wird sich die mittlere Lichtleistung einiger oder aller Laserlinien im Anregungslichtstrahl 7 langsam erhöhen. Mit dem oben beschriebenen Verfahren würden dann bei vorgegebenen HF-Werten (Frequenzen und Amplituden), mit denen der AOTF 58 beaufschlagt wird, um eine Grobeinstellung der Lichtleistung vorzunehmen,
20 die Amplituden der entsprechenden HF-Werte, mit denen der AOTF 15 beaufschlagt wird, aufgrund der Regelschaltung 51 stetig verringert werden, damit die Lichtleistungen im Beleuchtungslichtstrahl 17 konstant bleiben. Das überschüssige Licht, das nicht in die 1. Ordnung gebeugt wird, gelangt dann über die 0. Ordnung auf den Überwachungsdetektor 49. Dann ist es sinnvoll,
25 nach einer bestimmten Zeit die grobe Voreinstellungen am AOTF 58 neu zu setzen, so dass die Amplituden der angelegten HF-Frequenzen am AOTF 15 zunächst auf nahezu 100% geschaltet werden, um eine maximale Beugung der Laserlinien in den Beleuchtungslichtstrahl 17 zu erreichen. Danach beginnt das Verfahren wieder von Neuem bis sich ein Gleichgewicht
30 eingestellt hat und an dem akustooptischen Bauteil 13 nur noch geringe Schwankungen durch Setzen einer definierten Reflektivität pro Laserlinie ausgeglichen werden.

Fig. 2 zeigt eine Detailansicht aus einem erfindungsgemäßen Scanmikroskop. Der Ausgangslichtstrahl 7 durchläuft zunächst ein steuerbares optisches Element 57, das als AOTF ausgeführt ist und der Grobeinstellung innerhalb der Regelschaltung 51 dient. Es wird von einer dritten Hochfrequenzquelle 59 gespeist. Der linear polarisierte Ausgangslichtstrahl 7, der eine sagittale Polarisationsrichtung aufweist, wird mit der Einkoppeloptik 61 zum Transport in eine Lichtleitfaser 63 eingekoppelt. Nach dem Auskoppeln mit Hilfe der Auskoppeloptik 65 durchläuft der Ausgangslichtstrahl 7 ein weiteres steuerbares optisches Element 67, das als LCD-Polarisationsdreher 69 ausgeführt ist. Während des Durchlaufens der Lichtleitfaser dreht sich die Polarisationsrichtung des Ausgangslichtes in aller Regel, wobei der Drehwinkel zeitlichen Schwankungen unterworfen sein kann. Oft entsteht aus der anfänglich linearen Polarisation eine elliptische Polarisation. Der Teil des Ausgangslichtes, der sowohl tangentiale Polarisation als auch die gewünschte, zur HF-Frequenz korrespondierende Wellenlänge aufweist, wird von dem akustooptischen Bauteil 13, das als AOTF 15 ausgeführt ist, in die 1. Beugungsordnung gebeugt und als Beleuchtungslichtstrahl 17 zur nicht gezeigten Probe weitergeleitet. Der Teil mit derselben Wellenlänge jedoch sagittaler Polarisation wird in die zweite 1. Beugungsordnung gebeugt und von einem ersten Überwachungsdetektor 71 empfangen. Das übrige Ausgangslicht verlässt den AOTF 15 in Richtung der 0. Beugungsordnung und trifft auf einen zweiten Überwachungsdetektor 73. Die Signale des ersten Überwachungsdetektors 71 und des zweiten Überwachungsdetektors 73 werden an ein Verarbeitungsmodul 53 geleitet, das die Hochfrequenzquelle 47 des AOTF 15, die weitere Hochfrequenzquelle 59, des steuerbaren optischen Elements 57, sowie das Steuermodul 75 des LCD-Polarisationsdrehers 69 steuert bzw. regelt. Da die Summe der an dem ersten Überwachungsdetektor 71, dem zweiten Überwachungsdetektor 73 und der des Beleuchtungslichtes abzüglich einer von der Dämpfung des Systems, die durch eine Referenzmessung ermittelbar ist, konstant ist, lässt sich aus den Lichtleistungen am ersten Überwachungsdetektor 71 und am zweiten

Überwachungsdetektor 73 auf die Lichtleistung des Beleuchtungslichtes schließen; diese wird durch die Regelschaltung 51 zeitlich konstant gehalten. Auch ein Schwanken der Ausgangslichtleistung der Lichtquelle lässt sich insbesondere durch Vergleich der am ersten Überwachungsdetektor 71 und
5 am zweiten Überwachungsdetektor 73 gemessenen Lichtleistungen von dem Verarbeitungsmodul errechnen und durch Regelung berücksichtigen.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich
10 der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

Bezugszeichenliste:

	1	Scanmikroskop
	3	Lichtquelle
5	5	Mehrlinienlaser
	7	Ausgangslichtstrahl
	9	Beleuchtungslochblende
	11	Umlenkspiegel
	13	akustooptisches Bauteil
10	15	AOTF
	17	Beleuchtungslichtstrahl
	19	Probe
	21	Strahlablenkeinrichtung
	23	Scanspiegel
15	25	Scanoptik
	27	Tubusoptik
	29	Objektiv
	31	Detektionslichtstrahl
	33	Kompensationselement
20	35	weiteres akustooptisches Bauteil
	36	erster Spiegel
	37	zweiter Spiegel
	39	Detektionslochblende
	41	Detektor
25	43	Multibanddetektor

	45	Schallerzeuger
	47	Hochfrequenzquelle
	49	Überwachungsdetektor
	51	Regelschaltung
5	53	Verarbeitungsmodul
	55	weitere Hochfrequenzquelle
	57	steuerbares optisches Element
	58	AOTF
	59	dritte Hochfrequenzquelle
10	61	Einkoppeloptik
	63	Lichtleitfaser
	65	Auskoppeloptik
	67	weiteres steuerbares optisches Element
	69	Polarisationsdreher
15	71	erster Überwachungsdetektor
	73	zweiter Überwachungsdetektor
	75	Steuermodul

Patentansprüche

1. Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil, das aus dem Ausgangslicht zumindest einer Lichtquelle Beleuchtungslicht zur Beleuchtung einer Probe abspaltet und von der Probe ausgehendes Detektionslicht zu
5 einem Detektor weiterleitet, dadurch gekennzeichnet, dass im Strahlengang des Ausgangslichtes, aus dem das Beleuchtungslicht abgespalten ist, mindestens ein Überwachungsdetektor vorgesehen ist, der Messglied einer Regelungsschaltung ist.
2. Scanmikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass
10 das akustooptische Bauteil das Ausgangslicht räumlich spektral aufgespaltet.
3. Scanmikroskop nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass für unterschiedliche Wellenlängenbereiche oder unterschiedliche Wellenlängen des räumlich spektral aufgespaltenen Ausgangslichts je ein Überwachungsdetektor vorgesehen ist.
- 15 4. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass ein Verarbeitungsmodul vorgesehen ist, das in Abhängigkeit von zumindest einer mit dem Überwachungsdetektor gemessenen Lichtleistung, das akustooptische Bauteil steuert oder regelt.
5. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch
20 gekennzeichnet, dass das akustooptische Bauteil ein AOTF (acousto optical tunable filter) oder ein AOM (akustooptischer Modulator) ist.
6. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass ein Verarbeitungsmodul vorgesehen ist, das in Abhängigkeit von zumindest einer mit dem Überwachungsdetektor
25 gemessenen Lichtleistung ein im Strahlengang des Ausgangslichtes der Lichtquelle zwischen der Lichtquelle und dem akustooptischen Bauteil angeordnetes steuerbares optisches Element steuert oder regelt.
7. Scanmikroskop nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass

das steuerbare optisches Element ein Polarisationsdreher und/oder ein LCD-Element und/oder ein AOTF (acousto optical tunable filter) und/oder ein AOM (akustooptischer Modulator) und/oder ein EOM (elektrooptischer Modulator) ist.

Zusammenfassung

Ein Scanmikroskop mit einem akustooptischen Bauteil, das aus dem Ausgangslicht zumindest einer Lichtquelle Beleuchtungslicht zur Beleuchtung einer Probe abspaltet und von der Probe ausgehendes Detektionslicht zu
5 einem Detektor weiterleitet weist im Strahlengang des Ausgangslichtes, aus dem das Beleuchtungslicht abgespalten ist, mindestens einen Überwachungsdetektor auf, der Messglied einer Regelungsschaltung ist. Das Scanmikroskop zeichnet sich dadurch aus, dass zeitliche Schwankungen der Beleuchtungslichtleistung weitgehend vermieden sind.

10

Fig. 1

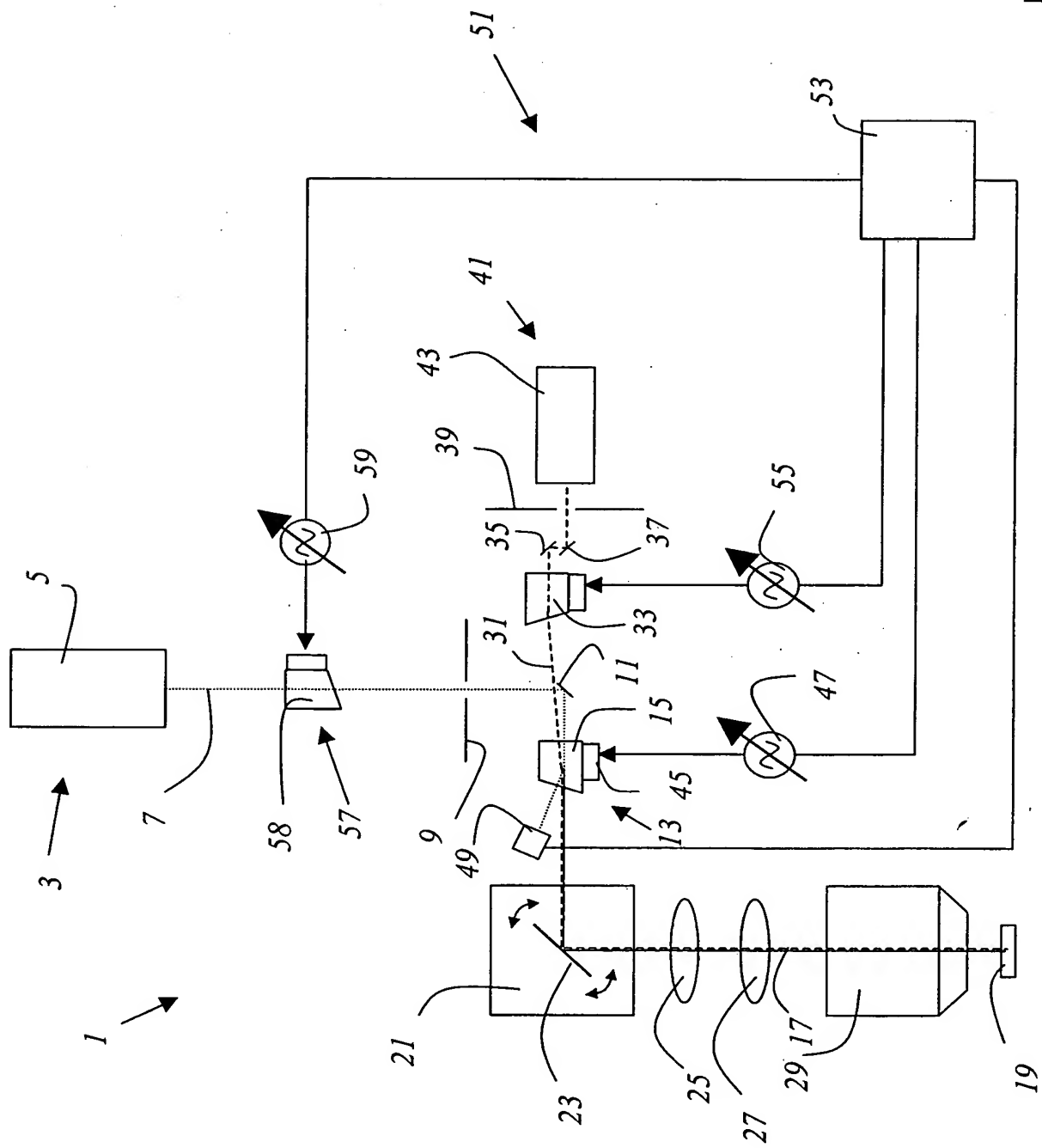


Fig. 1

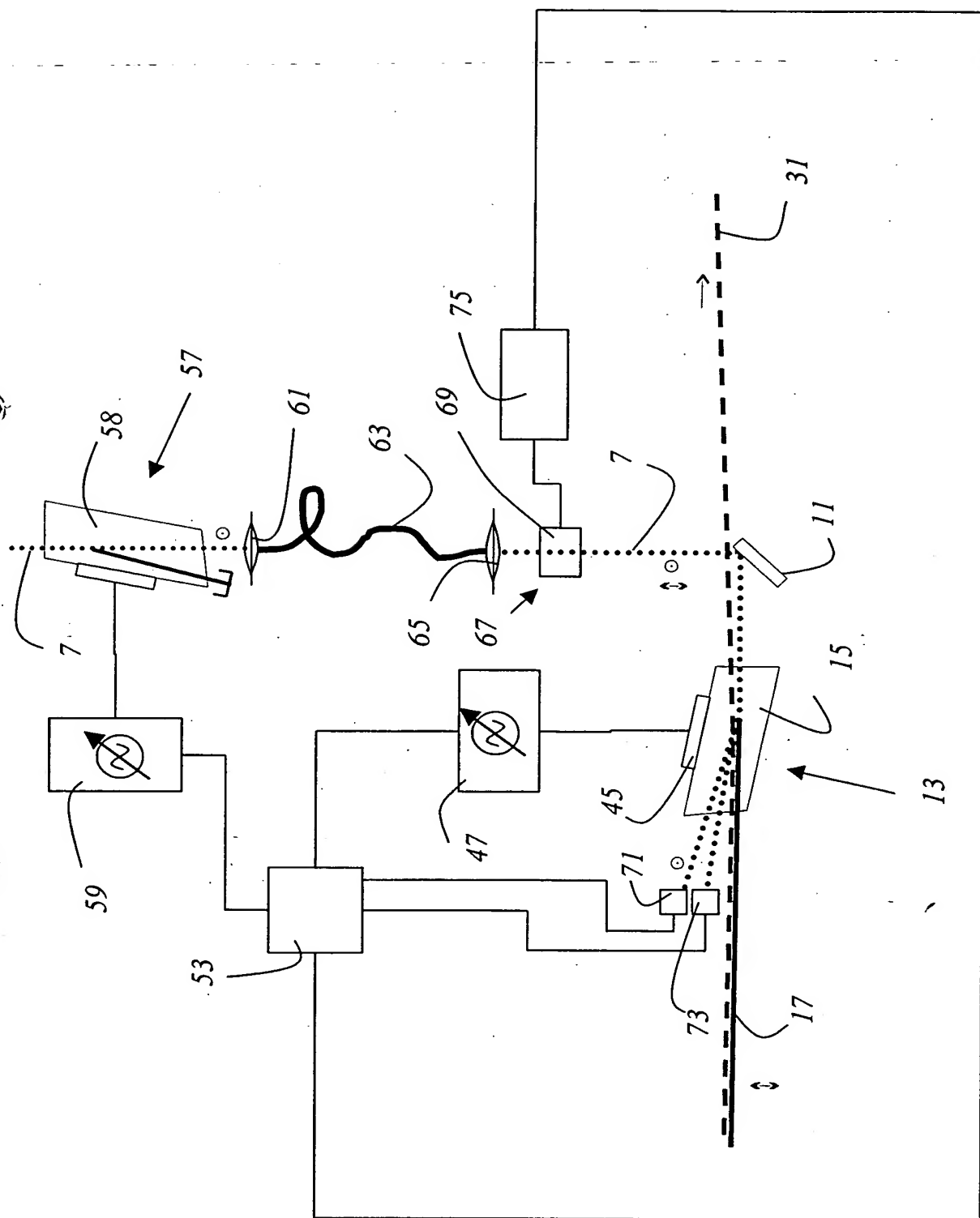


Fig. 2